

AGEN ANTIKULAT (ANTI-KANDIDA) DARIPADA  
*CINNAMOMUM ZEYLANICUM* BLUME

NOOR HAZARINA BINTI NORDIN

PUSAT PENGAJIAN SAINS KAJIHAYAT  
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA  
PULAU PINANG

2004

AGEN ANTIKULAT (ANTI-KANDIDA) DARIPADA  
*CINNAMOMUM ZEYLANICUM* BLUME

oleh

NOOR HAZARINA BINTI NORDIN

Tesis yang diserahkan untuk memenuhi  
keperluan Ijazah Sarjana Sains

PUSAT PENGAJIAN SAINS KAJIHAYAT  
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA  
PULAU PINANG, MALAYSIA

Mac, 2004

## PENGHARGAAN

Syukur ke hadratNya kerana dengan limpah kurniaNya dapat saya menyiapkan penyelidikan ini. Saya mengambil kesempatan ini merakamkan jutaan terima kasih dan setinggi-tinggi penghargaan buat penyelia saya, **PROFESOR MADYA DR. DARAH IBRAHIM** yang telah banyak memberikan tunjuk ajar, bantuan, dorongan dan sokongan beliau kepada saya sepanjang tempoh penyelidikan ini dijalankan.

Tidak lupa juga kepada Puan Siti Nurdijati Baha'uddin yang secara tidak langsung turut bertindak selaku penasihat dan menyediakan makmal penyelidikan serta membenarkan saya menggunakan pelbagai peralatan dan radas ujikaji di makmalnya. Jutaan terima kasih dan penghargaan saya ucapkan buat beliau atas jasa baik, tunjuk ajar, bimbingan dan bantuan yang telah dicurahkan kepada saya selama ini.

Saya turut merakamkan jutaan terima kasih ini kepada pihak Universiti Sains Malaysia yang telah bertanggungjawab membiayai pengajian saya selama tempoh 2 tahun saya menjalankan penyelidikan saya. Penghargaan ini turut ditujukan kepada pihak Institut Pengajian Siswazah, Universiti Sains Malaysia serta kakitangannya yang telah banyak membantu dan memberikan layanan mesra sepanjang tempoh saya bergelar pelajar.

Saya turut menitipkan penghargaan ini khas buat suami tersayang, Mohd. Zaidi Abdullah yang sentiasa berada di sisi dan memberikan sokongan yang tidak berbelah bagi serta

kedua ibu bapa saya yang amat dikasihi atas doa dan dorongan yang dicurahkan. Terima kasih juga buat semua teman seperjuangan di Makmal Fermentasi dan Teknologi Enzim yang sentiasa bersedia menghulurkan bantuan dan tunjuk ajar kepada saya di sepanjang tempoh penyelidikan ini, khasnya Kak Suraya, Sheh Hong, Kak An, Kak Suhaidah, Anu, Ida, Sasi dan Sumathi. Terima kasih semua atas segala-galanya.

Tidak dilupakan juga ucapan terima kasih saya kepada pihak Pusat Pengajian Sains Kajiheyat serta semua kakitangannya yang telah banyak membantu saya, khasnya Dr. Shaida Fariza Sulaiman, Kak Falizah dari Makmal Fermentasi dan Teknologi Enzim dan Kak Jamilah, Encik Muthu serta Encik Johari dari Makmal Mikroskop Elektron.

Jasa kalian tidak mungkin dapat kulupakan.

**NOOR HAZARINA BINTI NORDIN**

**MAC 2003**

## KANDUNGAN

	Muka surat
PENGHARGAAN	iii
KANDUNGAN	v
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI GAMBARFOTO	xiii
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvii
BAB 1.0 PENGENALAN	1
1.1 Antibiotik antikulat.	2
1.2 Pendekatan ke arah penemuan antibiotik antikulat.	4
1.3 Keperluan untuk mendapatkan antibiotik antikulat.	6
1.4 Pengelasan antibiotik antikulat.	10
1.4.1 Antikulat azol dan terbitannya.	11
1.4.2 Alilamina dan tiokarbamat.	11
1.4.3 Poliena.	12
1.4.4 Flusitosin.	12
1.4.5 Antikulat lipopeptida.	13
1.4.6 Griseofulvin.	13
1.5 Cara tindakan antibiotik antikulat.	14
1.5.1 Merencat biosintesis dinding sel.	15
1.5.2 Merencat biosintesis protein.	16

1.5.3	Merencat biosintesis sfingolipid.	17
1.5.4	Merencat sintesis asid amino.	17
1.5.5	Merencat pengangkutan elektron.	18
1.5.6	Merencat membran sel.	18
1.6	Sumber sebatian antibiotik.	20
1.6.1	Mikroorganisma sebagai sumber antibiotik.	21
1.6.1.1	Mikroorganisma daratan sebagai sumber antibiotik.	22
1.6.1.2	Mikroorganisma marin sebagai sumber antibiotik.	26
1.6.2	Haiwan marin sebagai sumber antibiotik.	29
1.6.2.1	Timun laut.	29
1.6.2.2	Span marin.	31
1.6.3	Tumbuhan sebagai sumber sebatian antibiotik.	31
1.7	Sebatian aktif daripada tumbuhan yang bersifat antikulat.	35
1.7.1	Kumpulan sebatian fenol dan polifenol.	39
1.7.1.1	Fenol ringkas dan asid fenolik.	39
1.7.1.2	Kuinon.	40
1.7.1.3	Flavanoid.	41
1.7.1.4	Tanin.	42
1.7.1.5	Koumarin.	43
1.7.2	Alkaloid.	43
1.7.3	Terpenoid dan minyak pati.	44
1.8	Kandidiasis.	45
1.8.1	Aspek biologi <i>Candida albicans</i> .	45

1.8.2	Jangkitan kandidiasis.	47
1.8.3	Taburan geografi jangkitan kandidiasis.	54
1.8.4	Sumber jangkitan kandidiasis.	55
1.8.5	Rawatan jangkitan kandidiasis.	55
1.9	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume.	56
1.9.1	Komponen aktif.	59
1.10	Objektif penyelidikan.	61
<b>BAB 2.0 BAHAN DAN KAEDAH</b>		63
2.1	Penyediaan sampel.	63
2.2	Pengekstrakan.	64
2.3	Kepekatan ekstrak.	64
2.4	Penyediaan mikroorganisma ujian.	65
2.5	Penyediaan inokulum.	65
2.6	Ujian aktiviti antikandida.	66
2.6.1	Penyediaan piring medium.	67
2.6.2	Penyediaan cakera ekstrak.	67
2.6.3	Ujian aktiviti antikandida.	68
2.7	Penentuan kepekatan perencatan minimum dan kepekatan kematian minimum.	69
2.8	Kesan kepelbagaian kepekatan ekstrak <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ke atas pertumbuhan <i>Candida albicans</i> .	71
2.9	Perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas rawatan ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	73

2.9.1	Aktiviti antikandida.	73
2.9.1.1	Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya (LM).	73
2.9.1.2	Pengamatan menggunakan mikroskop elektron penskanan (SEM).	74
2.9.1.3	Pengamatan menggunakan mikroskop elektron transmisi (TEM).	74
2.9.2	Zon perencatan aktiviti antikandida.	75
2.9.2.1	Pengamatan menggunakan mikroskop elektron penskanan (SEM).	76
2.10	Ujian ketoksikan menggunakan kaedah anak udang brin, <i>Artemia salina</i> .	78
2.10.1	Penyediaan medium pertumbuhan <i>A. salina</i> .	78
2.10.2	Ujian ketoksikan ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	79
2.11	Penyisihan komponen bioaktif daripada ekstrak dengan kaedah kromatografi.	79
2.11.1	Kromatografi lapisan nipis.	80
2.11.2	Kromatografi turus.	81
2.11.3	Ujian aktiviti antikandida.	83
2.11.4	Senarai sumber.	84
<b>BAB 3.0 KEPUTUSAN</b>		85
3.1	Penyaringan aktiviti antikandida daripada ekstrak kasar tumbuhan ubatan terhadap yis patogen ujian ( <i>Candida albicans</i> ).	85
3.2	Penentuan kepekatan perencatan minimum (MIC) dan kepekatan	92



	kematian minimum (MLC) daripada ekstrak kasar tumbuhan ubatan yang mempunyai kesan yistosid ke atas <i>C. albicans</i> .	
3.3	Kesan kepelbagaian kepekatan ekstrak <i>C. zeylanicum</i> ke atas pertumbuhan <i>C. albicans</i> .	98
3.4	Perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas rawatan ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	101
3.4.1	Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya.	101
3.4.2	Pengamatan menggunakan mikroskop elektron penskanan (SEM).	107
3.4.3	Pengamatan menggunakan mikroskop elektron transmisi (TEM).	116
3.5	Ujian ketoksikan menggunakan kaedah anak udang brin, <i>Artemia salina</i> .	126
3.6	Penyisihan komponen bioaktif daripada ekstrak dengan kaedah kromatografi.	127
3.6.1	Kromatografi lapisan nipis.	127
3.6.2	Kromatografi turus.	128
3.6.3	Ujian aktiviti antikandida.	129
<b>BAB 4.0</b>	<b>PERBINCANGAN</b>	133
4.1	Kegunaan spesies tumbuhan kajian.	133
4.2	Pengekstrakan.	138
4.3	Penyaringan aktiviti antikandida daripada ekstrak kasar tumbuhan ubatan terhadap yis patogen ujian ( <i>Candida albicans</i> ).	143

4.4	Penentuan kepekatan perencatan minimum (MIC) dan kepekatan kematian minimum (MLC) daripada ekstrak kasar tumbuhan ubatan yang mempunyai kesan fungisid ke atas <i>C. albicans</i> .	151
4.5	Kesan kepelbagaian kepekatan ekstrak <i>C. zeylanicum</i> ke atas pertumbuhan <i>C. albicans</i> .	155
4.6	Perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas rawatan ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	156
4.7	Ujian ketoksikan menggunakan kaedah anak udang brin, <i>Artemia salina</i> .	165
4.8	Penyisihan komponen bioaktif daripada ekstrak dengan kaedah kromatografi.	171
<b>BAB 5.0</b>	<b>KESIMPULAN DAN CADANGAN</b>	176
	<b>RUJUKAN</b>	178
	<b>LAMPIRAN</b>	200
	<b>PENERBITAN DARIPADA PENYELIDIKAN INI</b>	208

## SENARAI JADUAL

		Muka surat
Jadual 1.1	: Jangkitan superfisial.	8
Jadual 1.2	: Jangkitan kutaneous.	8
Jadual 1.3	: Jangkitan subkutaneous.	9
Jadual 1.4	: Jangkitan sistemik.	9
Jadual 1.5	: Kumpulan utama antibiotik antikulat dan mekanisme tindakannya.	19
Jadual 1.6	: Beberapa contoh antibiotik daripada mikroorganisma daratan.	24
Jadual 1.7	: Mikroorganisma marin yang menghasilkan antibiotik.	28
Jadual 1.8	: Tumbuhan yang mempunyai aktiviti antibakteria.	34
Jadual 1.9	: Tumbuhan yang mempunyai aktiviti antikulat.	34
Jadual 1.10	: Kumpulan utama sebatian antimikrob daripada tumbuhan.	37
Jadual 1.11	: Sebahagian sebatian daripada tumbuhan yang mempamerkan aktiviti antikulat dan antiyis.	38
Jadual 3.1	: Senarai ekstrak tumbuhan yang diuji terhadap yis <i>C. albicans</i> .	86
Jadual 3.2	: Ekstrak tumbuhan ujian dan zon perencatannya terhadap <i>C. albicans</i> .	89
Jadual 3.3	: Kesan perencatan dan penentuan nilai MIC secara kasar bagi ekstrak tumbuhan ujian melalui kaedah peresapan agar.	93
Jadual 3.4	: Nilai MIC dan MLC bagi ekstrak tumbuhan ujian melalui kaedah pencairan kaldu.	95
Jadual 4.1	: Kegunaan tumbuhan pilihan secara ringkas.	133

## SENARAI RAJAH

	Muka surat
Rajah 2.1 : Piring petri daripada pandangan atas.	77
Rajah 2.2 : Bongkah SDA di sempadan zon perencatan secara dekat.	77
Rajah 3.1 : Aktiviti antikandida oleh ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	97
Rajah 3.2 : Kesan ekstrak <i>C. zeylanicum</i> terhadap pertumbuhan <i>C. albicans</i> .	100

## SENARAI GAMBARFOTO

	Muka surat
Gambarfoto 1.1 : Jangkitan kandidiasis di kawasan bawah payu dara.	50
Gambarfoto 1.2 : Infeksi kandida berleluasa menunjukkan lesi terhakis dengan eritema dan sisik di pinggir.	50
Gambarfoto 1.3 : Paronikia; jangkitan yis menyebabkan kawasan di sekitar kuku menjadi bengkak dan sakit.	52
Gambarfoto 1.4 : Paronikia kronik. Lipatan kuku proksimal bengkak dan membonjol serta berlaku perubahan permukaan plat kuku.	52
Gambarfoto 1.5 : Morfologi daun dan bunga pokok kayu manis.	60
Gambarfoto 1.6 : Morfologi daun dan bunga pokok kayu manis secara dekat.	60
Gambarfoto 3.1 : Zon perencatan separa.	91
Gambarfoto 3.2 : Zon perencatan kekal.	91
Gambarfoto 3.3 : Kepelbagaian morfologi sel <i>C. albicans</i> kawalan yang normal.	103
Gambarfoto 3.4 : Perubahan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas tempoh pengeraman selama 12 jam.	104
Gambarfoto 3.5 : Perubahan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas tempoh pengeraman selama 24 jam.	105
Gambarfoto 3.6 : Perubahan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas tempoh pengeraman selama 36 jam.	106
Gambarfoto 3.7 : Foto mikrograf SEM menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	109
Gambarfoto 3.8 : Foto mikrograf SEM dan graf laporan EDX.	111
Gambarfoto 3.9 : Foto mikrograf SEM menunjukkan perbezaan morfologi sel <i>C. albicans</i> semasa ujian aktiviti	114

antikandida (kaedah peresapan agar) oleh ekstrak *C. zeylanicum* selepas tempoh pengeraman 24 jam.

Gambarfoto 3.10	:	Foto mikrograf TEM menunjukkan pelbagai struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> kawalan.	117
Gambarfoto 3.11	:	Foto mikrograf TEM menunjukkan pelbagai perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas pendedahan 12 jam kepada ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	119
Gambarfoto 3.12	:	Foto mikrograf TEM menunjukkan pelbagai perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas pendedahan 24 jam kepada ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	121
Gambarfoto 3.13	:	Foto mikrograf TEM menunjukkan pelbagai perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas pendedahan 36 jam kepada ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	123
Gambarfoto 3.14	:	Foto mikrograf TEM menunjukkan pelbagai perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas pendedahan 48 jam kepada ekstrak <i>C. zeylanicum</i> .	125
Gambarfoto 3.15	:	Zon perencatan yang terbentuk daripada larian ekstrak kasar <i>C. zeylanicum</i> di atas plat silika gel yang menggunakan pelarut kloroform.	131
Gambarfoto 3.16	:	Aktiviti perencatan oleh komponen sisihan yang disisihkan melalui kaedah kromatografi turus.	132

## ABSTRAK

Penyelidikan ini bertujuan untuk mengkaji aktiviti antikandida daripada pelbagai spesies tumbuhan ubatan. Dalam kajian ini 23 spesies tumbuhan ujian yang diekstrakkan dengan pelarut kloroform telah digunakan, tetapi hanya *Cinnamomum zeylanicum* menunjukkan aktiviti antikandida yang paling berkesan.

Ekstrak *C. zeylanicum* memberikan kesan perencatan aktiviti antikandida yang baik dan turut mencatatkan nilai MIC (0.391 mg/ml) dan MLC (0.781 mg/ml) yang terendah berbanding ekstrak-ekstrak tumbuhan ujian yang lain. Penelitian ke atas profil pertumbuhan yis yang mengalami pendedahan kepada kepekatan ekstrak *C. zeylanicum* yang tertentu, mendapati bahawa pertumbuhan sel yis mengalami perencatan sepenuhnya apabila kepekatan ekstrak melebihi 0.391 mg/ml digunakan. Keputusan ini disokong oleh hasil pengamatan yang dilakukan ke atas yis tersebut melalui mikroskop cahaya, mikroskop elektron penskanan dan mikroskop elektron transmisi yang menunjukkan perubahan struktur dan morfologi pada sel yis terbabit.

Keputusan kajian turut mencadangkan bahawa agen antikandida ini bertindak ke atas fungsi membran sel dan proses biosintesis dinding sel yang seterusnya menyebabkan pembentukan sitopatologi dan keruntuhan struktur membran yang akhirnya menyebabkan lisis dan kematian sel yis. Ekstrak *C. zeylanicum* memberikan keputusan nilai kepekatan maut 50 (LC<sub>50</sub>) pada 0.2 mg/ml di dalam ujian ketoksikan anak udang brin (*Artemia salina*) yang dilakukan.

Hasil pemisahan komponen-komponen sisihan daripada ekstrak kasar *C. zeylanicum*, didapati bahawa daripada 42 sampel yang berjaya dikutip, hanya satu sampel komponen sisihan sahaja yang menunjukkan tindakan aktiviti antikandida terhadap yis *C. albicans*. Memandangkan pembentukan saiz diameter zon perencatan dalam ujian penyaringan yang diperolehi daripada komponen sisihan ekstrak *C. zeylanicum* berbeza daripada ekstrak kasar *C. zeylanicum* itu sendiri, maka diandaikan bahawa ekstrak *C. zeylanicum* memberikan kesan perencatan maksimum hanya apabila semua sebatian bioaktif hadir bersama dan bertindak secara sinergistik.



ANTIFUNGAL AGENT (ANTICANDIDA) FROM *CINNAMOMUM*  
*ZEYLANICUM* BLUME

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the anticandidal activity of various medicinal plant species. In this study, chloroform extracts from 23 plant species were screened.

The strongest anticandidal activity was shown by the *C. zeylanicum* extract, with the lowest MIC and MLC values of 0.391 mg/ml and 0.781 mg/ml, respectively. Hence, further study was only focused on *C. zeylanicum*. Observation of the yeast's growth profile exposed to a certain extract concentration, revealed that the growth of *C. albicans* was completely inhibited. This finding was supported by light microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope micrographs that showed various changes occurring on the structure and morphology of the extract-treated yeast cells.

The results suggested that the anticandidal agent interfere in the permeability of the cell membrane and cell wall biosynthesis of the yeast cells, which subsequently lead to the formation of cytopathological and membrane structural degeneration and finally leading to cell lysis and death. Cytotoxicity tests of the extract by brine shrimp lethality assay showed that the significant value of lethality concentration of 50 (LC<sub>50</sub>) was 0.2 mg/ml.

Several components were isolated from the crude extract of *C. zeylanicum* by column chromatography methods. From the total 42 samples of isolated components, only one showed anticandidal activity against *C. albicans*. The difference in the inhibition zone sizes formed by the isolated component and the crude extract itself suggested that the extract showed maximum inhibition when all bioactive compounds act together and generate synergism effects against *C. albicans*.

## 1.0 PENGENALAN

Pada masa kini, berlaku peningkatan mendadak kepada keperluan antibiotik antikulat di seluruh dunia yang disebabkan oleh peningkatan bilangan pesakit yang imuno-kompromi termasuk penghidap AIDS, yang dijangkiti oleh pelbagai jenis kulat patogen, terutamanya *Candida albicans*. Tambahan pula, peningkatan rawatan kemoterapi tumor dan kanser, penggunaan drug penindas imun dan antibiotik berspektrum luas turut menyumbang kepada peningkatan bilangan pesakit yang dijangkiti oleh kulat. Beberapa rawatan terapi yang mudah telah diketahui untuk merawat jangkitan kulat, tetapi ia boleh membawa kepada masalah sampingan yang lain. Antibiotik azol misalnya lebih selamat digunakan berbanding dengan amfoterisin B yang didapati boleh memberikan kesan sampingan kepada pesakit. Walau bagaimanapun, antibiotik azol hanya bersifat fungistat yang membawa kepada beberapa kegagalan klinikal dalam sesetengah kes rawatan.

Puluhan tahun yang lalu, kita dapat melihat perkembangan dan peningkatan yang bermakna dalam kerintangan terhadap antibiotik antikulat dan antibakteria. Kerintangan kepada agen antimikrob memberikan kesan yang penting untuk merawat penyakit, kematian dan kos penjagaan kesihatan di hospital. Oleh itu, perhatian yang lebih telah diberikan dalam membangunkan kefahaman yang lebih teliti kepada mekanisme kerintangan antimikrob, pilihan bahan antibiotik yang baru untuk rawatan ke atas jangkitan oleh mikroorganisma yang rintang dan kaedah untuk mengelakkan kewujudan serta penyebaran mikroorganisma-mikroorganisma yang rintang ini.

Walau bagaimanapun, kajian ke atas kerintangan terhadap antikulat amat jauh ketinggalan berbanding kerintangan terhadap antibakteria. Alasan yang paling kuat ialah berkemungkinan disebabkan oleh kulat penyebab penyakit yang dahulunya belum dikenalpasti sebagai patogen berbahaya.

## 1.1 ANTIBIOTIK ANTIKULAT

Antibiotik antikulat boleh ditakrifkan sebagai sebatian yang dihasilkan atau dirembeskan oleh sebarang mikroorganisma yang boleh membunuh atau merencat pertumbuhan kulat dan sel yis (Alexopoulos & Mims, 1996). Penemuan antibiotik menjejak semula laporan yang pernah dikemukakan oleh Oxford *et al.* (1939) yang menemui griseofulvin, iaitu sebatian antibiotik antikulat yang pertama. Selepas itu, banyak kajian telah dilakukan ke atas keberkesanan griseofulvin sebagai agen antikulat. Antaranya ialah laporan oleh Brian *et al.* (1946) yang menerangkan kesan pintalan pada hifa *Botrytis allii* selepas dirawat dengan griseofulvin. Agen antikulat yang dirembeskan oleh *Penicillium griseofulvum* dan *Penicillium janczecoskii* (Gentles, 1958; Davies, 1980) didapati merencat pertumbuhan pelbagai kulat dermatofit seperti *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp. dan *Epidermophyton* spp. yang boleh menyebabkan penyakit kurap pada manusia dan haiwan (Deacon, 1980; Rippon, 1982; Evans & Gentles, 1985). Mod tindakannya adalah fungistat pada kepekatan yang rendah dan fungisid pada kepekatan yang tinggi (Speller, 1980). Struktur lengkap griseofulvin, kemudiannya dijelaskan oleh Brian *et al.* (1946) dan Grove & McGowan (1947).

Sikloheksamida pula ialah antibiotik yang mudah didapati di pasaran yang juga dikenali sebagai aktidion atau noukaksisin A. Ia dihasilkan oleh aktinomiset, *Streptomyces griseus* (Whiffen *et al.*, 1946). Struktur kristal daripada bentuk tulennya dipisahkan oleh Leach *et al.* (1947) dan struktur kimianya telah dijelaskan oleh Konfeld *et al.* (1949). Pada tahun 1950 pula, berlaku penemuan fungisidin oleh Hazen & Brown (1950) yang kemudiannya dikenali sebagai nistatin. Sejak daripada itu, lebih banyak lagi kumpulan antibiotik antikulat yang berbeza telah diisolat dan dihuraikan (Hino *et al.*, 2001; Barret, 2002; Gupta *et al.*, 2002; Gill & Campelo-Diaz, 2003).

Pada tahun 1950 juga, suatu makrolida poliena yang digunakan untuk merawat jangkitan kulat patogen yang serius, iaitu amfoterisin B telah ditemui dan ini diikuti dengan penemuan lipopeptida pada tahun 1970 (Gupta *et al.*, 2002). Antara antibiotik antikulat lipopeptida yang boleh didapati di pasaran masa kini ialah ekinokandin B (Nyfeler & Keller-Schierlien, 1974), pneumokandin (Scharwtz *et al.*, 1988), akuleasin (Mizuno *et al.*, 1977) dan suatu sebatian jenis-ekinokandin (Hino *et al.*, 2001). Sejak daripada itu, usaha-usaha penyelidikan untuk mencari suatu sebatian antibiotik antikulat yang baru, selamat, berspektrum luas dan berkesan telah mengalami perkembangan baru walaupun agak perlahan (Martin, 1977), berbanding dengan perkembangan kajian-kajian yang dilakukan untuk mencari antibiotik antibakteria. Alasan yang dapat dikemukakan di sini ialah sel kulat adalah sel eukariot, sepertimana sel mamalia. Oleh itu, agen antikulat yang dapat merencat proses biosintesis protein DNA atau RNA di dalam kulat turut berpotensi menyebabkan ketoksikan kepada sel perumah (Georgopapadakou & Walsh, 1994; Ghannoum & Rice, 1999). Selain daripada itu, ancaman atau wabak penyakit akibat

jangkitan kulit dahulunya dilihat sebagai suatu fenomena yang jarang berlaku dan tidak memerlukan penyelidikan yang berterusan.

## 1.2 PENDEKATAN KE ARAH PENEMUAN ANTIBIOTIK ANTIKULAT

Proses perkembangan dan pembangunan sebatian antikulat yang baru adalah sesuatu yang agak kompleks, memakan masa dan juga melibatkan kos yang tinggi. Kadar kejayaan dalam memperolehi sebatian antibiotik antikulat sasaran pada permulaannya adalah amat rendah. Secara umumnya, kurang daripada 2% sebatian baru menunjukkan kesan aktiviti biologi yang dikehendaki di dalam makmal ujian. Daripada modifikasi struktur untuk kelas sebatian yang sedia ada, hanya 1% sebatian diperolehi yang bersesuaian. Walau bagaimanapun, biasanya kurang daripada 10% daripada sebatian-sebatian ini yang memberikan keputusan yang menggalakkan di dalam ujian klinikal manusia dan mampu dipasarkan (Watve *et al.*, 2001).

Biasanya, kaedah pendekatan yang terbaik kepada penemuan antibiotik antikulat ialah melalui penskrinan produk-produk semulajadi. Pendekatan ini berdasarkan fakta bahawa kebanyakan antibiotik yang digunakan pada masa kini diperolehi hasil daripada kajian ke atas tumbuh-tumbuhan semulajadi. Sejarah kemoterapi pada zaman dahulu menunjukkan hasil tumbuhan digunakan untuk mengubat penyakit. Ia bermula sejak tahun 1619, iaitu kejayaan pertama merawat malaria dengan menggunakan ekstrak kulit batang pokok Chincona di Peru dan seterusnya penemuan ekstrak akar Ipecacuanha untuk merawat

disentri. Kemudian protosil, yaitu bahan kimia buatan yang disintesis pada tahun 1932. Manakala, era antibiotik pula bermula apabila Florey *et al.* (1949) mengumumkan bahawa penisilin daripada ekstrak kulat *Penicillium notatum* yang ditemui oleh Alexander Fleming adalah agen kemoterapeutik yang berkesan pada tahun 1940.

Pelbagai ekstrak daripada sumber-sumber semulajadi seperti tumbuhan, bakteria, tumbuhan marin, toksin haiwan dan sebagainya telah digunakan dalam kajian penskrinan aktiviti biologi untuk mengenalpasti agen-agen kemoterapeutik yang baru. Walau bagaimanapun, terdapat beberapa kebaikan dan juga keburukan bagi sesuatu sumber semulajadi yang telah disaring. Antara kebaikannya adalah molekul-molekul sebatian kimianya mempunyai struktur yang berbeza dan amat penting sebagai satu sumber sebatian berpotensi. Manakala, keburukannya pula ialah campuran sebatianannya terlalu kompleks dan mengandungi banyak makromolekul seperti lipid, protein dan karbohidrat. Tambahan pula, komponen yang dipencilkan itu mengandungi sebatian aktif dalam kuantiti yang terlalu kecil dan ini menimbulkan masalah apabila ujian penentuan struktur ingin dilakukan (Watve *et al.*, 2001).

Pendekatan seterusnya dalam mencari antibiotik antikulat adalah secara penskrinan rawak bersasaran. Secara dasarnya, penyaringan ini melibatkan pengujian rawak sebatian aktif yang diperolehi ke atas beberapa proses biopencerakanan. Bagaimanapun, kini adalah terbaru mencari sebatian antibiotik antikulat adalah melalui (Cane *et al.*, 1998). Dalam hal ini pencarian tertumpu kepada sebatian pilihan utama. Semakin banyak

sebatian bioaktif yang disaring, semakin tinggi peluang kebarangkalian untuk menemui sebatian yang diinginkan.

### 1.3 KEPERLUAN UNTUK MENDAPATKAN ANTIBIOTIK ANTIKULAT

Penyelidikan untuk mendapatkan antibiotik antikulat baru yang novel amat diperlukan. Ini berikutan kewujudan strain-strain kulat patogen yang rintang terhadap antibiotik antikulat sedia ada. Walaupun kerintangan sesuatu kulat itu terhadap antibiotik antikulat mengambil masa yang panjang, tetapi memandangkan keadaan tubuh manusia yang sesuai untuk pertumbuhannya, jangkitan kulat tetap akan berlaku. Kulat dibahagikan kepada dua kumpulan iaitu yang bersel tunggal dan bertunas yang disebut yis, dan yang berbilang sel yang kelihatan bak filamen, yang disebut kulat berfilamen (kulapuk). Kulat dan yis patogen ini boleh menyebabkan pelbagai penyakit kepada manusia.

Jangkitan kulat pada manusia dapat dibahagikan kepada 4 keadaan, iaitu jangkitan superfisial, jangkitan kutaneous, jangkitan subkutaneous dan jangkitan sistemik (Rippon, 1982). Jangkitan superfisial (Jadual 1.1) merupakan jangkitan kulat yang hanya terhad kepada permukaan luar kulit, rambut dan kuku manusia dan sasarannya adalah lapisan keratin. Contoh jangkitan superfisial ialah ulser mulut. Jangkitan superfisial pada haiwan pula melibatkan bulu, tanduk, kulit, bulu pelepah dan kuku (Evans & Gentles, 1985). Jangkitan kutaneous pula (Jadual 1.2) merupakan jangkitan kulat yang merangkumi penyebaran ke dalam lapisan epidermis kulit, rambut dan juga pada dasar kuku. Tindak



balas imun sel perumah terhadap jangkitan ini menyebabkan berlaku perubahan patologi pada perumah di lapisan dalam kulit. Agen penyebab penyakit ini dinamakan sebagai kulat dermatofit atau kulat dermatofitik. Contoh jangkitan kutaneous yang sering berlaku ialah kurap.

Jangkitan subkutaneous (Jadual 1.3) melibatkan tisu dermis, tisu subkutaneous, tisu otot dan juga tisu fascias (Rippon, 1982). Pada permulaannya, jangkitan ini menyerang lapisan dalam dermis, subkutaneous ataupun tulang. Kebanyakan jangkitan menyebabkan corak pertumbuhan yang kronik atau tersembunyi, dan akhirnya merebak ke dalam epidermis dan kelihatan seperti suatu lesi pada permukaan kulit. Contoh jangkitan ini ialah misetoma dan kromoblastomikosis. Jangkitan sistemik pula (Jadual 1.4) adalah jangkitan yang berasal daripada paru-paru dan kemudiannya merebak kepada sistem organ yang lain. Tidak seperti kebanyakan kulat yang lain, agen kulat sistemik ini bersifat patogen semulajadi. Setiap spesies kulat mempunyai ciri biokimia dan struktur yang membolehkan ia menentang sistem pertahanan perumah yang dijangkitinya. Fokus utama jangkitan ini adalah pada organ paru-paru, dan seterusnya jangkitan sekunder akan muncul pada mana-mana organ badan yang lain. Kulat penyebab jangkitan sistemik ini boleh dikenali melalui fasa saprofit dan fasa parasitik. Jangkitan sistemik sering melibatkan yis patogen seperti *Candida albicans*, yang dirujuk sebagai jangkitan kulat pengambil peluang. Jangkitan yis patogen ini menjadi lebih teruk apabila ia menjangkiti pesakit yang rendah sistem kelmunannya seperti pesakit AIDS, pesakit diabetes mellitus dan pesakit yang menjalani rawatan antibiotik secara berterusan.

**Jadual 1.1 : Jangkitan superfisial.**

Kulat	Penyakit	Simptom
<i>Malassezia furfur</i>	'Pityriasis versicolor'	Makul hipopigmen.
<i>Exophiala werneckii</i>	'Tinea nigra'	Makul hitam.
<i>Piedraia hortai</i>	'Black piedra'	Makul hitam pada rerambut.
<i>Trichosporum beigelii</i>	'White piedra'	Nodul berwarna krim pada permukaan rerambut.

**Jadual 1.2 : Jangkitan kutaneous.**

Kulat	Penyakit	Simptom
<i>Microsporum</i> spp.,	'Tinea capitis'	Lesi kurap pada kulit kepala.
<i>Trichophyton</i> spp.,	'Tinea corporis'	Lesi kurap pada badan, lengan dan kaki.
<i>Epidermatophyton</i> sp.	'Tinea manus'	Lesi kurap pada tangan.
	'Tinea cruris'	Lesi kurap pada pangkal peha.
	'Tinea pedis'	Lesi kurap pada kaki.
	'Tinea unguium'	Jangkitan kulat pada kuku dan dasar kuku.
	'Ectothrix'	Jangkitan kulat pada permukaan rerambut.
	'Endothrix'	Jangkitan kulat pada bahagian struktur dalam rerambut.

**Jadual 1.3 : Jangkitan subkutaneous.**

Kulat	Penyakit	Simptom
<i>Sporothrix schenckii</i>	Sporotrikosis	Nodul dan ulser disepanjang limfatik pada kawasan jangkitan.
<i>Fonsecaea pedrosoi</i> <i>Fonseceae compacta</i> <i>Wangiella dedrmatitidis</i>	Kromoblastomikosis	Nodul ketuat yang kelihatan seperti 'kobis bunga' pada kawasan jangkitan.
<i>Pseudallescheria boydii</i> <i>Madurella grisea</i> <i>Madurella mycetomatis</i>	Misetoma	Pengeluaran cairan sinus pada tapak jangkitan.

**Jadual 1.4 : Jangkitan sistemik.**

Kulat	Penyakit	Simptom
<i>Candida albicans</i>	Kandidiasis	Pengeluaran cairan vagina secara berlebihan, tompokan krim keputihan pada mulut.
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Histoplasmosis	Batuk, demam.
<i>Actinomyces israeli</i>	Aktinomikosis	Demam, batuk, sesak nafas, sakit dada, penurunan berat badan.
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Kriptokokkosis	Meningitis (sakit kepala, fotofobia, sakit leher) dan pendarahan otak (sakit kepala, muntah, demam).

terdapat pelbagai laporan yang telah menyatakan kewujudan kerintangan antikulat. Walsh *et al.* (1990) dan Pfaller *et al.* (1994) misalnya telah melaporkan kerintangan *Trichosporon beigelii* dan *Candida lusitania*, masing-masing terhadap amfoterisin B. McGinnis & Rinaldi (1996) pula melaporkan kerintangan *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* dan *Cryptococcus neoformans* terhadap flukonazol. Disamping itu, terdapat juga kerintangan berbilang terhadap antikulat. Johnson *et al.* (1984) melaporkan *C. albicans* yang rintang terhadap ketokonazol, mikonazol dan juga flukonazol. Bossche *et al.* (1992) juga telah melaporkan strain *Torulopsis glabrata* yang rintang terhadap flukonazol, ketokonazol dan itrakonazol.

#### 4.4 PENGELASAN ANTIBIOTIK ANTIKULAT

Sejak penemuan griseofulvin, sikloheksamida serta nistatin, terdapat banyak antibiotik antikulat yang terdapat di pasaran, yang telah diluluskan untuk kegunaan manusia menentang dan merawat penyakit jangkitan kulat. Walaupun terdapat banyak sebatian antikulat, namun ia dapat dikelaskan kepada azol dan terbitannya, poliena, morfolina, lissitramina dan tiokarbamat, analog nukleosida (5-fluorositosin), lipopeptida dan sebagainya.

#### **1.4.1 Antikulat Azol Dan Terbitannya.**

Sebatian azol dan terbitannya seperti mikonazol, ekonazol, ketonazol, flukonazol, itrakonazol dan terbaru sekali ialah vorikonazol terbukti amat berkesan untuk menentang jangkitan kulat dan yis (Ghannoum & Rice, 1999). Malah kesemua antikulat ini telah digunakan secara meluas (Sheehan *et al.*, 1999).

Azol biasanya merencat sintesis sterol yang terdapat di dalam membran sel. Ergosterol iaitu sejenis sterol di dalam membran sel bertindak sebagai pengawalatur kebendaliran membran atau ketelapannya (Nozawa & Morita, 1986). Terdapat banyak bukti yang menunjukkan bahawa sasaran azol adalah protein haem, yang memangkinkan sitokrom P-450 (Hitchcoch *et al.*, 1990). Hasil daripada tindakan ini adalah perencatan pembentukan 14 $\alpha$ -demetilase yang menyebabkan pengurangan ergosterol tetapi meningkat pengumpulan prekursor sterol, termasuk sterol 14 $\alpha$ -metil, yang akan membentuk membran sel yang terubah struktur dan fungsinya (Sanati *et al.*, 1997).

#### **1.4.2 Alilamina Dan Tiokarbamat.**

Kumpulan antikulat ini adalah jenis sintetik dan contohnya adalah seperti naftifins, thionafin dan tolnaftat. Kumpulan alilamina dan tiokarbamat biasanya merencat biosintesis ergosterol (Ryder & Favre, 1997). Kematian sel kulat adalah disebabkan oleh pengumpulan skualen, iaitu sejenis sebatian yang terhasil daripada tindakbalas yang dimangkinkan oleh enzim skualen epoksidase. Terdapat bukti yang menunjukkan bahawa

pekatan skualen yang tinggi akan meningkatkan ketelapan membran sel, yang akhirnya menyebabkan kemusnahan organisasi sel (Lanyi *et al.*, 1974).

#### 4.3 Poliena.

Poliena adalah sekumpulan antikulat yang kebanyakannya dihasilkan oleh aktinomiset *Streptomyces* spp. Antara antikulat poliena termasuklah nistatin, amfoterisin B, filipin, natamisin, trikomisin, kandisidin, kandidin, namisin dan etrukomisin. Antikulat poliena amat sesuai untuk merawat jangkitan penyakit yang disebabkan oleh yis patogen seperti *C. albicans* dan *Cryptococcus neoformans*. Antikulat poliena bertindak ke atas sterol yang terdapat pada membran sel.

#### 4.4 Flusitosin.

Flusitosin adalah antikulat yang sering digunakan untuk merawat penyakit kandidiasis, tromomikosis dan aspergilosis sistemik, sama ada bersendirian atau gabungan dengan amfoterisin B. Flusitosin yang mulanya disintesis oleh Duschinsky *et al.* (1957) adalah suatu agen sitostat. Flusitosin atau dikenali juga sebagai 5-fluorositosin (5FC) adalah analog nukleosida. Biasanya 5FC akan memasuki sel sasaran dengan bantuan enzim permease. Apabila berada di dalam sel, ia akan ditukarkan menjadi 5-fluorourasil (5FU) oleh enzim sitosin deaminase. Selanjutnya, 5FU itu akan ditukarkan lagi oleh enzim MP pirofosforilase dan akan berikat kepada RNA sel sasaran. Apabila keadaan ini berlaku, sintesis protein akan terganggu. Di samping itu, 5FU juga dapat ditukarkan

menjadi 5-fluorodeoksiuridin monofosfat, yaitu suatu perencat kepada thimidil sintase yang kuat. Enzim thimidil sintase ini terlibat di dalam sintesis DNA dan pembahagian nukleus (Diasio *et al.*, 1978). Oleh itu 5FC bertindak sebagai pengganggu kepada metabolisme pirimidin dan sintesis RNA, DNA serta protein pada sel kulat.

#### 4.5 Antikulat Lipopeptida.

Antikulat lipopeptida adalah perencat kepada enzim  $\beta$ -1,3 glukon sintase iaitu enzim utama yang terlibat dalam biosintesis  $\beta$ -1,3 glukon. Antikulat ini biasanya dihasilkan oleh mikroorganisma dan antara contohnya termasuklah ekinokandin B, pneumokandin, kuleasin, papulakandin dan kapsosungin. Antikulat ini dicirikan dengan struktur nukleus seksapeptida siklik yang dihasilkan dengan asid lemak berantai panjang (Ghannoum & Rice, 1999; Hino *et al.*, 2001).

#### 4.6 Griseofulvin.

Penggunaan antikulat griseofulvin untuk membunuh kulat dermatofit penyebab kurap pada manusia mula dibuktikan oleh Brian *et al.* (1946) dan Gentles (1958). Griseofulvin yang dihasilkan oleh *Penicillium griseofulvum* ini bertindak ke atas dinding sel kulat yang kaya dengan kitin. Griseofulvin juga mengganggu sintesis purina, pirimidina dan nukleotida (McNall, 1960).

## 1.5 CARA TINDAKAN ANTIBIOTIK ANTIKULAT

Agen antimikrob merupakan bahan kimia yang dihasilkan oleh sejenis mikroorganisma yang mampu membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisma lain. Antibiotik pertama kali digunakan merujuk kepada substrat yang dihasilkan oleh kulat dan bakteria yang merencatkan proses utama mikroorganisma lain kecuali mikroorganisma yang juga menghasilkan antibiotik yang sama. Kemudiannya, istilah ini telah digunakan untuk merujuk kepada komponen tumbuhan peringkat tinggi yang mempunyai kesan yang serupa dalam kepekatan yang rendah (Oliver, 1983). Agen antimikrob yang bertindak dalam perawatan penyakit dikenali sebagai agen terapeutik (Pelczar & Chan, 1981).

Menurut Atlas (1984), sesuatu antikulat yang baik tidak merosakkan sel-sel perumah apabila membunuh patogen. Agen antimikrob biasanya merencat pembahagian sel dalam mikroorganisma kerana gangguan asid p-aminobenzoik yang merupakan kofaktor dalam sintesis asid folik. Ada juga yang mengganggu sintesis protein dalam mikroorganisma. Agen antimikrob juga dapat menyerang membran sitoplasma dengan mengubahsuai struktur lipoprotein. Terdapat juga yang menghalang pembentukan dinding sel baru semasa pembahagian sel dengan menyekat pengeluaran enzim transpeptidase yang mengawal sintesisnya (Oliver, 1986). Contoh agen antibakteria ialah penisilin daripada kumpulan  $\beta$ -laktam yang mampu merencat sintesis dinding sel bakteria. Manakala bagi agen antikulat pula ialah Griseofulvin yang bertindak sebagai agen fungistat terhadap kulat dermatofit seperti mikrospora dengan merencat sistesis protein pada dinding sel yang mengandungi kitin.



Menurut Akerele (1992), terdapat 4 cara utama agen antimikrob bertindak iaitu secara merencat biosintesis dinding sel, perubahan proses resapan atau perencatan sistem pengangkutan aktif melalui membran sel, perencatan biosintesis protein dan perencatan biosintesis asid nukleik. Manakala, Murray (1990) pula melaporkan bahawa terdapat 5 cara tindakan agen antimikrob, iaitu aktiviti antimetabolit, merencat sintesis dinding sel, mengganggu fungsi membran sel, merencat sintesis protein dan merencat sintesis asid nukleik. Menurut Jensen & Wright (1989), agen antimikrob yang berkesan harus mempunyai sifat-sifat seperti perangsangan kehiperpekaan (alahan) pada perumah tidak berlaku, kepelbagaian tindakan terhadap patogen, tidak toksik pada perumah, tidak mengganggu sistem pertahanan perumah dan tiada kelahiran mikroorganisma baru yang penting padanya.

Seperti antibiotik antibakteria, antikulat juga mempunyai cara tindakannya ke atas sel sasaran. Walaupun pada asasnya, cara tindakan antikulat adalah sama seperti antibakteria, namun oleh kerana sel kulat adalah eukariot maka sudah tentulah cara atau mekanisme tindakannya sedikit berbeza. Mekanisme tindakan antibiotik antikulat termasuklah merencat biosintesis dinding sel, merencat biosintesis protein, merencat biosintesis trigolipid, merencat sintesis asid amino dan merencat pengangkutan elektron.

## 5.1 Merencat Biosintesis Dinding Sel.

Dinding sel kulat termasuk yis adalah berbeza daripada bakteria di mana ia mengandungi komponen-komponen manan, kitin dan  $\alpha$ -glukan serta  $\beta$ -glukan. Oleh kerana komponen-

omponen ini hanya terdapat pada dinding sel kulat sahaja, maka ia boleh dijadikan asaran pilihan untuk tindakan antikulat. Terdapat beberapa sebatian antikulat yang dilaporkan dapat bertindak sebagai perencat biosintesis dinding sel. Ia termasuklah orinekandin, iaitu suatu analog glikolipid kepada papulakandin (Gunawardana *et al.*, 1997).

Perencat  $\beta$ -glukan bertindak sebagai perencat tidak bersaing yang khusus kepada  $\beta$ -(1,3)-glukan sintetase. Rawatan ke atas kulat dan yis dengan sebatian ini akan merencat sintesis komponen glukan, tanpa mengganggu sintesis asid nukleik atau mannan. Perencat sintesis glukan akan merendahkan kandungan ergosterol dan lanosterol tetapi sebaliknya akan meningkatkan kandungan kitin di dalam dinding sel (Pfaller *et al.*, 1989). Perencatan ke atas pensintesis enzim  $\beta$ -(1,3)-glukan sintetase menyebabkan berlakunya perubahan sitologi dan struktur pada sel-sel yis yang dicirikan dengan penebalan dinding sel pada pseudohifa di samping tunas-tunasnya pula gagal untuk berpisah daripada induk masing-masing. Di samping itu, sel-sel yis menjadi sensitif kepada tekanan osmosis dan englisian sel berlaku dengan mudah di bahagian tunas yang sedang membesar (Bozzola *et al.*, 1984).

## 5.2 Merencat Biosintesis Protein.

Sel-sel kulat termasuk yis dan sel mammalia memerlukan 2 faktor protein terlarut, iaitu faktor pemanjangan 1 (EF-1 $\alpha$ ) dan faktor pemanjangan 2 (EF-2), untuk tindakan pemanjangan rantai polipeptida dalam sintesis proteinnya. Walau bagaimanapun,

ebanyakan sel kulit memerlukan faktor pemanjangan tambahan, yaitu EF-3, yang tidak terdapat pada sel mamalia. Oleh itu, protein faktor pemanjangan EF-3 adalah penting untuk kemandirian sel kulit dan gangguan pada protein ini akan membawa maut kepada sel sasaran.

### 5.3 Merencat Biosintesis Sfingolipid.

Sfingolipid adalah suatu komponen membran yang penting pada sel kulit dan manusia. Ia terletak di bahagian paling luar membran sel kulit (Patton & Lester, 1991). Langkah awal dalam biosintesis sfingolipid adalah penkondensasian asil ko-A dengan serin, yaitu dalam suatu tindakbalas yang dimangkinakan oleh serin palmitotransferase. Sebatian antikulat seperti sfingofungin yang merupakan agen antikulat berspektrum luas mampu merencat tindakbalas ini walaupun dalam kepekatan yang rendah (Carman & Henry, 1989). Antikulat lain yang merencat biosintesis sfingolipid ialah aureobasidin A, miriosin dan viridifungin (Zweerink *et al.*, 1992; Horn *et al.*, 1994; Mandala *et al.*, 1997).

### 5.4 Merencat Sintesis Asid Amino.

Penemuan analog asid amino, Sispentasin yaitu suatu antikulat yang mempamerkan aktiviti *in vitro* yang baik (Konishi *et al.*, 1989) dan mempunyai sasaran sel berbilang (Capo-Bianco, 1994) telah meningkatkan kemungkinan untuk menggunakan antikulat yang mengganggu dan merencat sintesis asid amino. Di samping sispentasin,

azoksibasilin juga mempamerkan mekanisme tindakan yang sama sepertinya (Fujio *et al.*, 1994).

#### 1.5.5 Merencat Pengangkutan Elektron.

Kini terdapat beberapa sebatian antikulat yang dapat merencat pengangkutan elektron pada sel kulat dan yis. Sebagai contoh, membran plasma  $H^+ATPase$  adalah protein membran integral dari kelas jenis-P  $ATPase$  translokasi ion dan ia merupakan sasaran oleh agen antikulat, misalnya bafilomisin (Muroi *et al.*, 1993). Ia adalah enzim penting yang terlibat di dalam pengendalian tahap proton elektrokimia dan pengaturan pH intrasel (Georgopapadakou & Walsh, 1994).

#### 1.5.6 Merencat Membran Sel.

Sebagaimana mamalia, membran sel kulat (eukariot) juga terdiri daripada sterol dan fosfolipid sebagai komponen utamanya dan turut berfungsi mengawal ketelapan membran sel, di mana berlakunya aktiviti pengangkutan molekul-molekul kecil dan tindakbalas serta sebagai tapak matriks untuk protein. Faktor utama fungsi membran sel adalah kadar kealirannya yang ditentukan oleh komposisi lipid (Georgopapadakou & Walsh, 1994). Agen antikulat bertindak mengubah dan kadangkala merencat laluan biosintesis ergosterol pada membran sel kulat. Jadual 1.5 menunjukkan beberapa kumpulan utama antibiotik antikulat dan mekanisme tindakannya.

**Jadual 1.5 : Kumpulan utama antibiotik antikulat dan mekanisme tindakannya**  
(Gupta *et al.*, 2002).

KUMPULAN / SEBATIAN	MEKANISME TINDAKAN
<u>Azol dan terbitannya:</u> Mikonazol Ketokonazol Flukonazol Itrakonazol Vorikonazol	Bertindak dengan sitokrom P-450, merencat demetilasi lanosterol C-14 yang menyebabkan pengurangan ergosterol dan pengumpulan sterol di dalam membran sel.
<u>Poliena:</u> Amfoterisin B Nistatin	Bertindak ke atas ergosterol, mengganggu membran sel.
<u>Alilamina dan tiokarbamat:</u> Naftifin Terbinafin Tolnaftat	Merencat pensintesisan enzim skualen siklase yang menyebabkan pengurangan ergosterol dan pengumpulan skualen oksida di dalam membran sel.
<u>Lipopeptida:</u> Ekinokandin Akuleasin Pneumokandin	Merencat pensintesisan glukon sintase iaitu enzim utama dalam biosintesis $\beta$ -1,3 glukon.
<u>Analog nukleosida:</u> 5-fluorouracil	Membentuk 5-fluorouracil yang menyebabkan salah kod dan dengan ini merencat pensintesisan DNA sel kulat dan yis.

## 1.6 SUMBER SEBATIAN ANTIBIOTIK

Sebatian antibiotik boleh dihasilkan oleh pelbagai jenis mikro- dan makro-organisma seperti kulat, bakteria, alga, tumbuhan peringkat tinggi dan juga haiwan. Kebanyakan antibiotik adalah metabolit sekunder yang dikeluarkan oleh mikroorganisma pada fasa pegun pertumbuhannya. Di samping kulat dan bakteria yang amat penting dalam penghasilan antibiotik, pada masa ini tumbuh-tumbuhan juga merupakan sumber yang penting bagi penghasilan antibiotik. Ini kerana terdapat banyak penyelidikan yang berjaya memisahkan jenis sebatian bersifat antibiotik daripada tumbuh-tumbuhan. Kejayaan ini merupakan suatu alternatif bagi para saintis perubatan untuk menggunakan sebatian aktif daripada tumbuhan sebagai suatu sumber untuk menghasilkan antibiotik baru dalam bidang perubatan.

Kajian terhadap beberapa spesies tumbuhan mendapati bahawa terdapat beberapa bahan aktif atau metabolit sekunder pada tumbuhan yang bertindak sebagai bahan antibakteria. Antaranya adalah minyak pati, fenol, alkaloid, terpenoid, quinon, asid sitrik, flavanoid dan enzim proteosis (Oliver, 1986). Minyak pati didapati menunjukkan kebolehan antibakteria yang paling ketara berbanding dengan ekstrak tumbuhan lainnya (Deans, 1991).

Sebatian semulajadi daripada tumbuhan yang mempunyai kesan aktiviti antimikrob sebahagian besarnya merupakan hasil metabolisme sekunder. Antara sebatian-sebatian yang menjadi tumpuan untuk tujuan penyelidikan ialah terpenoid, saponin, glikosida

kardiak dan flavanoid. Penggunaan sebatian-sebatian ini meliputi spektrum yang luas seperti mikroorganisma, haiwan dan manusia. Sebatian semulajadi seperti metabolit sekunder yang dihasilkan oleh organisma hidup mungkin merupakan bahan buangan tidak berguna yang dapat digunakan sebagai agen antimikrob yang bertujuan menghalang jangkitan mikroorganisma sebagai satu cara perlindungan atau pertahanan daripada serangan musuh. Perlakuan ini amat penting sebagai suatu sistem pertahanan dan telah menarik perhatian ramai untuk melakukan kajian tindakan aktiviti antimikrob oleh ekstrak tumbuhan ke atas mikroorganisma patogen.

Tumbuhan peringkat tinggi, terutamanya spesies tropika menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai aktiviti antibakteria (Macfoy & Cline, 1990). Menurut Oliver (1986), contoh hasil metabolisme sekunder ialah alkaloid, terpenoid, saponin, flavanoid, quinon, minyak pati dan fenol. Pengasingan sebatian aktif daripada tumbuhan dapat dikelaskan kepada 2 kaedah, iaitu penyaringan secara biologi dan juga penyaringan fitokimia yang dapat menentukan jenis sebatian yang wujud di dalam sesuatu tumbuhan.

#### 1.6.1 Mikroorganisma Sebagai Sumber Antibiotik.

Sejak tahun 1929 di mana Alexander Fleming telah menemui antibiotik pertama iaitu penisilin daripada sejenis kulat iaitu *Penicillium notatum*, maka mikroorganisma telah merupakan suatu sumber yang penting untuk menghasilkan pelbagai jenis antibiotik. Terdapat sebanyak 50% daripada antibiotik telah dipencilkan daripada aktinomiset, iaitu

*Streptomyces*. Manakala, 2 genus kulat iaitu *Aspergillus* dan *Penicillium* pula merupakan kulat yang penting bagi menghasilkan antibiotik (Lancini *et al.*, 1995).

Selain daripada mikroorganisma daratan yang merupakan sumber paling penting dalam menghasilkan antibiotik, mikroorganisma marin juga merupakan satu kumpulan yang penting untuk menghasilkan sebatian-sebatian semulajadi yang aktif dan dapat bertindak sebagai sebatian antibiotik. Didapati penemuan sebatian-sebatian tersebut adalah aktif untuk merawat pelbagai jenis penyakit (Fenical, 1993).

#### 6.1.1 Mikroorganisma daratan sebagai sumber antibiotik.

Kini terdapat banyak jenis mikroorganisma daratan yang telah disaring dan dikaji keupayaannya untuk menghasilkan sebatian antibiotik. Sebilangan besar mikroorganisma yang didapati boleh menghasilkan antibiotik telah dipencilkan daripada persekitaran semulajadi dan setiap jenis daripadanya diuji terhadap pelbagai jenis organisma lain untuk menentukan kewujudan antagonisma (Brock *et al.*, 1989).

Kebanyakan daripada mikroorganisma ini disaring daripada tanah, lumpur, kompos, bahan yang kaya dengan bahan organik, daun berpenyakit, batang pokok dan juga daripada haiwan dan najisnya (Syed Ezanee Zulfakhri, 2003). Menurut Austin (1989), terdapat sebanyak 30, 000 hingga 50, 000 produk semulajadi yang telah berjaya disaring daripada mikroorganisma dan hanya 10,



000 daripadanya adalah sebatian yang aktif secara biologi. Manakala daripada 10, 000 sebatian aktif yang didapati, sebanyak 8, 000 adalah antibiotik.

Penemuan yang hebat ini telah membuka satu lembaran baru dalam bidang farmaseutis. Banyak saintis perubatan telah berusaha mencari sebatian-sebatian baru yang bersifat antibiotik daripada mikroorganisma daratan. Di antaranya yang penting dalam penghasilan antibiotik adalah kumpulan aktinomiset seperti *Streptomyces*, *Nocardia* dan *Micromonospora*. Kepentingan habitat pertumbuhannya telah menjadikan aktinomiset sebagai salah satu kumpulan penting yang penting dalam menghasilkan antibiotik. Tanah merupakan habitat yang paling sesuai untuk pertumbuhan aktinomiset dan sumber tanah yang berlainan boleh mengakibatkan terbentuknya pelbagai jenis strain dan bilangan aktinomiset di dalamnya. Pemilihan sumber tanah yang sesuai didapati banyak menghasilkan bahan metabolit sekunder yang aktif (Okami & Okazaki, 1972). Jadual 1.6 menyenaraikan sebahagian antibiotik yang dihasilkan daripada mikroorganisma daratan.

Jadual 1.6 : Beberapa contoh antibiotik daripada mikroorganisma daratan.

Mikroorganisma	Antibiotik yang dihasilkan
<u>Aktinomiset:</u>	
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Aureomisin
<i>Streptomyces capreolus</i>	Kapreomisin
<i>Streptomyces erythreus</i>	Eritromisin
<i>Streptomyces filipensis</i>	Filipin
<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Higromisin
<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Linkomisin
<i>Streptomyces plicatus</i>	Plikaketin
<i>Streptomyces prasinus</i>	Prasinomisin
<i>Streptomyces griseus</i>	Streptomisin
<i>Streptomyces showdoensis</i>	Showdomisin
<u>Bakteria:</u>	
<i>Bacillus brevis</i>	Gramisidin S
<i>Bacillus licheniformis</i>	Basitrasin
<i>Bacillus subtilis</i>	Basitrasin
<i>Bacillus polymyxa</i>	Polimiksin B
<i>Micrococcus varians</i>	Mikrokosin
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Piosianina
<i>Pseudomonas mesoacidophila</i>	Monolaktam